

dans le gel, les corps embryoides se développent en trois dimensions et forment des boules blanches de tissu ressemblant au cerveau humain embryonnaire. Exposées aux signaux chimiques appropriés qui déclenchent le développement du cerveau fœtal, les cellules souches engendrent des répliques exactes du prosencéphale, la région appelée à devenir le siège de fonctions mentales supérieures telles que la planification, le raisonnement ou la mise au point de stratégies. Cette partie du cerveau comprend des structures telles que le cortex (la surface externe et plissée) et le plexus choroïde (la région qui produit le liquide céphalorachidien).

Nous avons également observé la formation d'autres structures qui guident les cellules vers le bon emplacement dans le cerveau en développement. Les éminences ganglionnaires médianes et latérales, qui remplissent cette fonction, y contribuent en donnant naissance à des cellules qui inhibent en général l'activité neuronale (des interneurons) et à l'hippocampe, essentiel pour la formation de la mémoire.

Les cellules d'un organoïde en développement s'organisent de la même façon que celles d'un cerveau d'un fœtus humain de 8 à 10 semaines. Dans de rares cas, les organoïdes développent même de petits cillitons, des indentations dans le tissu contenant des pigments colorés, comme ce qui se passe quand l'œil humain commence à se former. De même, comme dans

pour comprendre ce qui se passe dans les maladies psychiatriques dues à un défaut de migration des neurones.

L'idée de produire des tissus en culture a une histoire. Le développement actuel des organoïdes résulte en réalité de nombreuses années de recherches par tâtonnements, dont certaines remontent à plus d'un siècle. Déjà en 1907, le zoologiste Henry Wilson avait démontré que certains animaux simples, tels que les éponges, ont la capacité de se réassembler après avoir été dissociés en cellules individuelles – signe que chacune de leurs cellules est dotée d'un programme qui permet de reconstituer l'ensemble de l'édifice à partir de ses composants épars. Une observation qui porte en germe l'idée selon laquelle quelques cellules souches disposeraient des informations nécessaires pour reconstruire un cerveau entier.

Et dès 1939, le biologiste germano-américain Johannes Holtfreter découvrit en effet que les différentes cellules d'un embryon de grenouille, même après avoir été totalement séparées, tendent à se rencontrer et à reconstituer la forme initiale. Au cours des années 1980, cette découverte a conduit à une prolifération d'études de « réagrégation », où se formaient en laboratoire des organes animaux complexes, tels la rétine ou même le cortex, par assemblage de leurs différents types cellulaires.

Tirant avantage des premières expériences de réagrégation effectuées entre 2006 et 2010, le chercheur japonais Yoshiki Sasai (qui s'est suicidé en 2014 sur fond de scandale à la fraude scientifique touchant l'une de ses collègues) fut l'un des premiers à utiliser des cellules souches pluripotentes pour la culture de tissus du système nerveux, en particulier de rétine humaine. En fait, notre

technique d'organoïdes cérébraux a rejoint les siennes grâce aux travaux pionniers du généticien néerlandais Hans Clevers, de l'université d'Utrecht, qui a mélangé des cellules souches avec du Matrigel pour établir un système utilisable pour cultiver des tissus d'intestin, d'estomac et même de foie et de pancréas.

Au-delà des leçons tirées de ces premières études, nos travaux s'appuient sur des techniques récentes qui bouleversent de vastes pans de la recherche biomédicale.

L'une d'elles, dite de reprogrammation, a été mise au point par le lauréat du prix Nobel Shinya Yamanaka, de l'université de Kyoto. Elle consiste à transformer des cellules du corps déjà pleinement matures (qu'il s'agisse de cellules de peau ou de sang) en cellules souches pluripotentes grâce à une simple série de manipulations génétiques. On peut ensuite transformer ces cellules pluripotentes en différents types de cellules cérébrales, puis les mettre en culture pour obtenir des organoïdes. Une approche qui a l'avantage d'éviter le recours à des cellules issues d'embryons.

Les bénéfices de la reprogrammation sont immenses : vous pouvez comparer un organoïde cultivé à partir de cellules d'un patient atteint d'une anomalie génétique avec ceux d'une personne en bonne santé, afin d'identifier les causes sous-jacentes d'une maladie, car le défaut génétique présent dans les cellules du patient devrait avoir les mêmes conséquences sur l'organoïde que chez le fœtus en développement.

Percer les secrets de la microcéphalie

En fait, nous avons déjà utilisé la technique des organoïdes pour étudier la microcéphalie, une forte réduction de la taille du cerveau à la naissance. Nous avons trouvé que les organoïdes cultivés à partir de cellules d'un patient atteint de microcéphalie sont beaucoup plus petits que la normale. Comme il est possible de cultiver un nombre illimité de cellules du patient, nous pouvons désormais procéder à des analyses détaillées de la chaîne d'événements moléculaires qui conduit à la microcéphalie chez le fœtus en développement.

Cela vaut probablement aussi en grande partie pour d'autres troubles cérébraux : l'utilisation d'organoïdes cultivés à partir de cellules des patients devrait permettre aux neurobiologistes de mieux comprendre les défauts affectant le développement du cerveau qui sont à l'origine de la schizophrénie, de l'épilepsie et d'autres maladies difficiles, voire impossibles, à étudier chez l'animal.

Une autre approche consiste à fabriquer des organoïdes à partir de cellules de personnes saines. De tels minicerveaux ont déjà été fructueusement utilisés durant l'actuelle épidémie d'infection par le virus Zika, soupçonné d'être à l'origine d'une microcéphalie chez plusieurs bébés nés de femmes infectées lors de leur grossesse.

Les organoïdes cérébraux suscitent de grands espoirs, car ils fournissent des informations impossibles à obtenir avec des souris

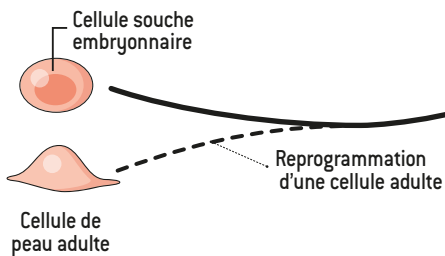
un cerveau en développement, les cellules se divisent et donnent naissance aux divers types de neurones présents chez un fœtus. Ceux-ci projettent également des axones, de longs filaments qui établissent le contact avec des cellules voisines pour former un réseau de signalisation actif. Précisons qu'avant la formation de ces réseaux, les neurones migrent d'une région vers une autre, comme ils le font chez le fœtus : dès lors, les minicerveaux en développement sont potentiellement intéressants

COMMENT CRÉER UN CERVEAU EN LABORATOIRE ?

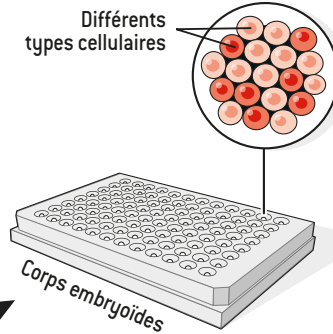
Pour créer un organoïde cérébral, ou minicerveau, les chercheurs déposent une minuscule boule de cellules souches sur un lit baigné de nutriments, où elle peut se développer. Les cellules reproduisent ensuite en grande partie le processus de développement qui se déroule chez le jeune embryon.

1 Le processus démarre avec

des cellules souches embryonnaires ou avec des cellules souches pluripotentes obtenues par reprogrammation génétique de cellules adultes (de peau, de sang, etc.). Elles sont capables de se transformer en tout type de cellule du corps.



Différents types cellulaires



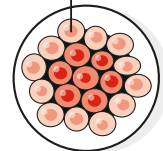
2 Jours 0 à 5

Les cellules se divisent et s'agrègent en boules appelées corps embryoides. En l'espace de trois jours, ces cellules commencent à former trois couches distinctes nommées ectoderme, mésoderme et endoderme.

3 Jours 6 à 10

Les corps embryoides reçoivent des nutriments qui les transforment en neuroectoderme, la partie du fœtus à l'origine du cerveau humain.

Neuroectoderme

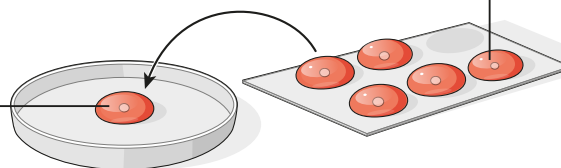
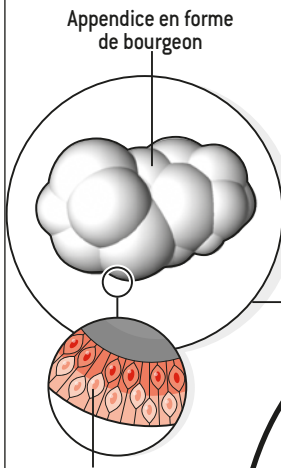


4 Jours 11 à 15

De petites boules de neuroectoderme sont incluses dans un gel qui favorise la croissance d'appendices en forme de bourgeons, d'où se développeront des structures cérébrales matures.

Gouttelette de gel

Tissu neuroectodermique

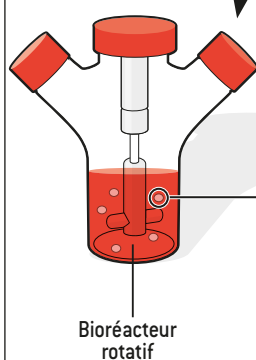


5 Jours 16 à 30

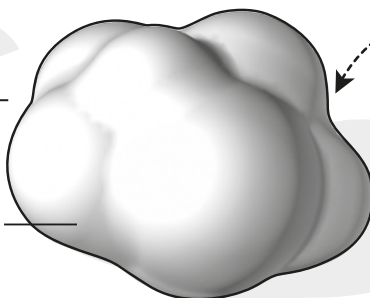
Dans un bioréacteur rotatif, les corps embryoides se développent en organoïdes cérébraux, des boules blanches de tissu cérébral qui ressemblent au prosencéphale d'un fœtus humain en développement.

Cellules en phase de maturation

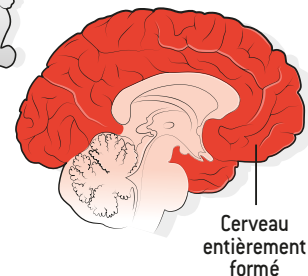
Prosencéphale d'embryon de 10 semaines



Organoïde cérébral



Analogie



RÉSULTAT : après un mois d'incubation, les cultures présentent l'apparence du prosencéphale d'un embryon âgé de 10 semaines. Cette région du cerveau comprend le cortex (la grande structure plissée externe) et le plexus choroïde (la région qui produit le liquide céphalorachidien).

Illustration de Tami Dolja, d'après M. A. Lancaster et J. A. Knoblich, Generation of cerebral organoids from human pluripotent stem cells, Nature Protocols, vol. 9, pp. 2329-2340, oct. 2014